Генетика старіння

В біології старіння — це процес поступового порушення і втрати важливих функцій організму чи його частин, зокрема здатності до розмноження і регенерації. Внаслідок старіння організм стає менш пристосованим до умов оточуючого середовища, зменшує і втрачає свою здатність до боротьби з хижаками, хворобами і травмами. Наука, яка вивчає старіння людини, називається геронтологією.

Існує багато теорій старіння, але їх всіх можна розділити на 3 групи: до 1- ї відносяться ті, які свідчать про чіткий детермінований процес старіння, що залежить від спадковості людини, тобто цей процес запускається генами. Гіпотези 2-ї групи говорять про те, що тільки фактори оточуючого середовища запускають механізм старіння, а 3-ї – що старіння залежить на 50% від спадковості людини і 50% від факторів зовнішнього середовища. Якщо умови оточуючого середовища різко погіршуються, то старіння, згідно 3-го класу гіпотез, прискорюються. Існує більше 100 генів людини, які пов’язані зі старінням.

Старіння може протікати на протязі десятків років, а може відбуватися дуже швидко (у деяких випадках протягом декілька років) в наслідок низки захворювань, так званих прогерій, завдяки специфічним мутаціям. Ці мутації призводять до певних дефектів на клітинному і молекулярному рівнях, які і підсилюють різке старіння всього організму, а також пов’язані з генами хелікази, ламінів, систем репарації ДНК. Прогерії належать до спадкових хвороб, хоча у багатьох випадках у хворого просто не має шансів, але у популяціях зустрічаються дуже рідко. Такі захворювання мають велике значення для наукового розуміння того факту, що конкретні мутації можуть призводити до процесів старіння.

До прогрій належить **синдром Вернера** - аутосомно-рецесивне захворювання, яке характеризується передчасним старінням шкіри, судинної і репродуктивної систем, кісток. До статевої зрілості пацієнти розвиваються нормально. Симптоми старіння у них починаються в ранній зрілості. Вже в молодому віці вони страждають від катаракти, склеродермальних і дегенеративних судинних змін, діабету та атеросклерозу, остеопорозу, високої частоти деяких форм рака, посивіння. Хворі передчасно помирають чи від раку, чи від серцево-судинних хвороб. Середня тривалість життя під час такого захворювання – 40-50 років.

Функція гена даного захворювання була охарактеризована першою серед генів всіх прогерій. Синдром Вернера розвивається внаслідок аутосомно-рецесивої мутації в гені *WRN* хромосоми 8, що призводить до порушення функції особливої ДНК-геликази Основна роль білка WRN в клітині – реініціювання заблокованих реплікаційних вилок. В результаті мутації порушуються процеси реплікації і репарації ДНК, експресії генів, прискорюється вкорочення теломер і збільшується чутливість клітин до апоптозу.

Рестриктивна дермопатія представляє собою рідкісний аутосомно- рецесивний синдром. Це летальне перинатальне прогероїдне захворювання, яке характеризується затримкою роста, щільною і жорсткою шкірою, облисінням, мікрогнатією та іншими порушеннями кісток, викликається делецією гена *ZMPSTE24*, що кодує протеазу, необхідну для ендопротеолітичного процесінгу преламіна А в дозрілий ламін. Таким чином, вона викликається дефектом біогенезу ламіна А.

Існує багато різноманітних прогерій, проте можна чітко виявити загальні механізми, які їх обумовлюють:

- порушення властивостей теломер, хроматина і клітинного ядра;
- порушення репарації і реплікації ДНК, генетична нестабільність;
- порушення експресії генів;
- репликативне старіння;
- збільшена чутливість клітин до апоптозу;
- елімінація стовбурових клітин.

Теломери є структурами на кінцях лінійних хромосом. У клітинах ссавців вони складаються з гексануклотидних (TTAGGG) повторів і з пов'язаними з ними білками. У клітин, які діляться відбувається поступове руйнування теломерів до критичного ступеня скорочення, що призводить до хромосомних аномалій і клітинної смерті чи старіння. Експресія ферменту, який подовжує теломери, теломерази, пригнічується рано під час розвитку у всіх нормальних людських соматичних тканинах.

Деякі дослідники вважають, що старіння людини - це продукт генетично обумовленого процесу поступово-паралельного вимкнення-включення (в основному вимкнення) життєво важливих генів, зокрема тих, які відповідають за енергетичний обмін, і можливим включенням певних генів у відповідності до певної програми. Проте ступінь детермінованості такої програми поки залишається не зовсім зрозумілим. При цьому, якщо на початку онтогенезу більшість генів включається, то в кінці його більшість генів виключається.

Таким чином, можна узагальнити основні властивості процесу старіння тварин:

1. Смертність серед тварин, в тому числі і в людських популяціях, відноситься до інваріантних констант, які забезпечують появу і збереження життя на Землі. Механізм старіння дуже надійний.
2. Всезагальність і подібність характеристик старіння у ссавців, універсальність динаміки смертності у представників різніх класів тварин.
3. Диференціювання еукаріотичних клітин тварин на нестаріючі статеві і відповідальні за старіння соматичні.
4. Старіння є генетично обусмовленим процесом з низьким коеффіцієнтом успадкування. Середня тривалість життя - чітка видова ознака.
5. Кореляція тривалості життя з ефективністю роботи систем репарації ДНК.

5. Можливі штучний добір за тривалістю життя, а також швидка зміна тривалості життя в еволюції.

6. Ймовірна значна зміна середньої тривалості життя популяції від покоління до покоління однієї лінії без всяких зовнішніх впливів.

7. Вариація індивідуальної тривалості життя зберігіється у інбредних ліній і монозиготних близнюків, хоча у них є і певна конкордантність за тривалістю життя. Однакова варіація тривалості життя в популяціях різних видів.

8. На процеси старіння не діє природний добір, так як їх фенотипові проявлення відносяться до пострепродуктивного періоду.

9. Встановлено, що процес старіння і радіаційне вкорочення тривалості життя мають потенційну фазу - період, коли вони розвиваються, але ніяк себе не проявляють.

10. Опромінення іонізуючою радіацією в обмежаних дозах постмітотичних тканин організму може вкорочувати тривалість життя без викривлення природного старіння, а вплив антиоксидантів - збільшувати.

Ця особливість механізму старіння дозволяє припустити, що в процесі старіння важливу роль відіграє не тільки генетичний механізм, але і його взаємодію зі стохастичними пошкодженнями.

Клітинне старіння. Старіння відбувається не тільки на організменому рівні, воно також характерне для органного, клітинного і молекулярного рівнів. Деякі дослідники вважають, що більшість процесів, які відбуваються на клітинному і молекулярному рівнях, пізніше стають причиною старіння всього організму. Хоча інколи організм «жертвує» клітиною чи клітинами для спасіння всього організму.

Загибель клітин відбувається за чіткою програмою під керівництвом генів, яка називається *запрограмованою загибеллю клітин (ЗЗК)*. За останні роки дослідження молекулярних механізмів ЗЗК стало одним з найважчих і найактуальніших проблем біологічних і медичних наук.

Згідно з концепцією ЗЗК, яка була висунута в кінці 1920-х років і зараз є загально прийнятою, клітини беруть активну участь у своєму знищенні. Крім того, загибель еукаріотичних клітин відбувається різними диференційними шляхами і має різні форми прояву. Найдослідженішою формою запрограмованої загибелі еукаріотичних клітин є апоптоз. У перекладі з грецької мови “апоптоз” означає “опадання”, наприклад, листя.

Апоптоз регулює клітинну масу й архітектуру багатьох тканин. Чотири основні характеристики апоптозу: стискання клітини, агрегація хроматину, фрагментація генома та зміна в оболонках апоптуючої клітини, що призводить до розпізнавання її фагоцитами. У нормальному організмі генетично обумовлену смерть клітин іноді нелегко відрізнити від випадкової смерті. Випадкова смерть вражає клітини окремої особини без усякого вибору, хаотично: окрема клітина може загинути або й ні на певній стадії розвитку організму. Генетично обумовлена смерть обов'язково вражає кожну клітину даного виду на певній стадії нормального онтогенезу. Таким чином, останній вид смерті клітин характеризується певним просторовим розміщенням гинучих клітин, певною стадією онтогенезу нормального організму, специфічним, завжди однаковим для даної клітини, механізмом загибелі.

Відкриття феномену самознищення клітин тварин і людини було революційним явищем в біології. Воно дозволило по-новому оцінити механізми підтримки клітинного гомеостазу в різні періоди онтогенезу і під час розвитку багатьох патологічних станів. Розкриття механізмів ЗЗК може мати важливе значення не тільки для поглиблення уявлень про роль ЗЗК у підтримці нормального клітинного гомеостазу і в патогенезі старіння і різних захворювань, але також для розробки сучасних діагностичних методів і терапевтичних засобів.

Хоча терміни “ЗЗК” і “апоптоз” часто вживаються як синоніми, між ними є певні відмінності. Під ЗЗК розуміють механізм елімінації клітини, який активується під час формування органів, тканин і всього організму в період ембріо- і морфогенезу, деяких форм старіння; у рослин — при відповіді клітини на патогени. Водночас протягом апоптозу загибель клітини не обов’язково є запрограмованою. І навпаки, ЗЗК не завжди відбувається шляхом апоптозу. Крім того, Керр зі співавторами відзначили існування двох різних видів клітинної смерті у тварин — апоптозу і некрозу. До недавна вважалося, що некроз — це не запрограмована форма загибелі клітин. Проте останнім часом з’являються відомості що ця форма загибелі клітини також є запрограмованою.

Взагалі всі фактори, які викликають ЗЗК, можна розділити за походженням на фізичні, хімічні і біологічні Некроз характеризується розривом цитоплазматичної і внутрішньоклітинних мембран, що призводить до нищення органел, звільнення лізосомальних ензимів і виходу вмісту цитоплазми в міжклітинний простір. Натомість, під час апоптозу зберігається цілісність мембран, органели виглядають морфологічно інтактними.

Форма клітинної загибелі — шлях апоптозу чи некрозу — у багатьох випадках визначається внутрішньоклітинною концентрацією NAD+ чи АТР. Зниження рівня NAD+АТФ призводить до індукції некрозу. Таким чином, процеси апоптозу і некрозу мають як подібні, так і протилежні риси. Ключовою характеристикою апоптозу є систематична фрагментація ядерної ДНК (яДНК) з молекулярною масою фрагментів близько 180 пар нуклеотидів (п.н.), яка виникає внаслідок конденсації хроматину та фрагментації ядер. Існують й інші відомості, які стосуються розподілу фрагментів ДНК протягом апоптозу. Так, на думку деяких авторів розподіл за молекулярною вагою фрагментів ДНК становить більше 1000 тис. пар нуклеотидів (т.п.н.), 450-600 т.п.н. і 30-50 т.п.н. В інших роботах виявлено фрагменти, розмір яких становить 50 і 560 т.п.н., 50-100 т.п.н., 100-300 т.п.н., ~50 т.п.н.

Іноді утворюються невеликі фрагменти з розмірами 100 п.н., а потім 50 і 300 т.п.н. Мабуть це не випадково. Розподіл за молекулярною вагою фрагментів, що утворюються під час розпаду ДНК, можливо пов'язаний з організацією хроматину у вигляді структурних петель і розеток.

Існує низка генів, які пов'язані з ЗЗК. Так, ген *bcl-2* відкритий у 1985 р. одержав свою назву від захворювання В-клітинної лімфоми/лейкемії (B-cell lymphoma/leukemia), протягом якого спостерігалася його гіперекспресія. У геномі людини цей ген локалізований у 18-й хромосомі і може транслокуватися в область 14q32 14-ої хромосоми, де знаходяться енхансерні елементи генів важких ланцюгів імуноглобулінів. Унаслідок такої транслокації може відбуватися злоякісна трансформація В-клітин з утворенням лімфом, і тому ген *bcl-2* може відноситись до розряду потенційних онкогенів.

Білок p53, який кодується однойменним геном, є супресором пухлинного росту і регулятором багатьох клітинних функцій: мітотичного циклу, репарації пошкоджень ДНК, диференціювання клітин і апоптозу. Він постійно синтезується клітинами, але дуже швидко розщеплюється, тому його концентрація у більшості нормальних клітин і тканин низька. Коли в клітині відбувається пошкодження ДНК, тоді вміст даного білка різко збільшується внаслідок його стабілізації. У випадку значного пошкодження ДНК білок p53 активує експресію гена *bax*. Збільшується рівень білка Bax, який утворює гетеродимер з білком Bcl-2, що викликає загибель клітин через апоптоз.

Отримані дані, які свідчать про те, що один ген p53 без участі інших генів не здатний викликати апоптоз клітин карциноми прямої кишки. Припускають, що апоптоз-індукуюча та ріст-інгібуюча активності білка p53 визначаються різними доменами його структури, а також те, що крім p53-опосередкованого механізму індукції апоптозу існує ще й p53-незалежний механізм.

Існують дані про те, що продукти гена *bcl-2* і його аналогів – це велика група білків, яким належить важлива роль у чутливості клітин до стресових і летальних сигналів. Антиапоптичні білки родини Bcl-2 здатні в багатьох випадках інгібувати як апоптичну, так і некротичну програми клітинної деструкції, які можуть викликатися, наприклад, цитокінінами, Ca^{2+}-іонофором та ін.

Відкрито ген, що викликає некротичну форму загибелі клітин, які його експресують. Пронекротичні функції у білка BNIP3 (індуктора апоптозу без функціонального домену BH3 з родини Bcl-2) виявлялися в клітинах, які були трансфіковані цим геном, у появі ранньої проникності плазматичної мембрани, вакуолізації цитоплазми та аутофагії мітохондрій. У цілому, як виконавчі механізми клітинної загибелі (проапоптичні члени родини Bcl-2), так і інгібуючі (антиапоптичні члени родини Bcl-2) мають багато спільного і для апоптичної, і для некротичної форм деструкції клітин.

Гени старіння. Останнім часом виділено багато генів, які впливають на хід старіння. Це, зокрема, ген теломерази, який підтримує певну довжину хромосом, гени p53 і p16, що контролюють апоптоз і проліферацію (в тому числі запобігають проліферації онкологічних клітин). В різних дослідах на тваринах і в культурах клітин було показано, що певні характеристики продуктів цих генів пов'язані зі старінням.

Такими характеристиками можуть бути:

1. Рівень експресії гена і кількість відповідного білка.
2. Модифікації білка (наприклад, фосфорилювання за певними амінокислотними залишками), які регулють його активність.
3. Регуляція синтезу білка у часі (наприклад, на певних стадіях клітинного циклу) і просторі (тканино-специфічний синтез).

Регуляція експресії генів представляє собою складний процес: транскрипція, як і всі наступні стадії, контролюється різноманітними способами. Таким чином, на активність генів, зв'язаних безпосередньо з процесами старіння, впливають гени транскрипційних факторів, регуляторні РНК, регулятори трансляції РНК і т.ін.

Для розуміння механізмів старіння і можливостей боротьби із ним мають значення такі питання, як:

1. Які саме варіанти послідовностей ДНК формують ті або інші характеристики білків, залучених у старіння? Які варіанти асоційовані із фенотипами, що відповідають за швидке старіння?
2. Як епігенетичні взаємодії (метилування ДНК, модифікації гістонів) запускають процеси, які відносяться до старіння на клітинному рівні? (Відомо, що метилування може відключити експресію гена. Модифікації гістонів в районі певного гена можуть дозволити йому експресуватися тільки в певних тканинах і в певні періоди часу).
3. Які регуляторні фактори (фактори альтернативного сплайсингу, активатори та інгібітори ферментів) впливають на гени, пов'язані зі старінням? Оскільки активність регуляторних факторів також залежить від послідовательностей ДНК, які кодують відповідні гени, то, маніпулюючи ДНК, теоретично можна очікувати на зміни системи в цілому.

Під час старіння може також змінюватися не тільки структура генів, а й напрямок їх функціонування. З віком в соматичних клітинах накопичуються не тільки мутації, але й хромосомні перебудови. Передбачається, що зміни хроматину можуть відігравати головну роль у вікових змінах пов'язаних з регуляцією експресії генів. Зі збільшенням віку не виявлені стехіометричні зміни більшості гістонів, крім подвиду гістона H_1. Передбачається, що ацетилювання гістонів може змінювати взаємодію гістон-ДНК і робить ДНК більш доступною, знижується по мірі старіння на 30-70%.

Встановлено, що в цілому транскрипційна активність клітин на протязі старіння організму знижується, хоча рівень загальної РНК залишається постійним за рахунок зниження швидкості поновлення РНК. У більшості досліджень була знайдена помітна кореляція між пов'язаними з віком змінами рівня мРНК і рівнем білка (чи ферментативною активністю), обумовленим різними видами мРНК.

Після розшифрування геному людини ведеться активний пошук кандидатів на роль генів смерті і довголіття. Schachter зі співавторами запропонували класифікувати такі гени на: 1) гени, гомологічні генам, що обумовлюють тривале життя у тварин інших видів; 2) гени, які беруть участь у підтримці клітинної рівноваги тканин і репарації; 3) гени, що відповідають за розвиток основних захворювань, пов'язаних зі старінням.

Було встановлено, що ген bcl-2 кодує білки мембрани мітохондрій і його функція проявляється у фенотипі безсмертя в тих клітинах, де він експресується. Однак, на відміну від інших онкогенів, він не викликає клітинну проліферацію. Показано, що ген bcl-2 блокує запрограмовану клітинну смерть і таким чином подовжує життя клітин. Продукт цього гена запобігає токсичному ефекту гідроксильних радикалів, захищая старіючи клітини від оксидативного стресу. Оскільки ген bcl-2 є частиною клітинної системи протидії апоптозу, тона даний час досліджуються шляхи використання bcl-2 як лікувального засобу в терапії нейродегенеративних захворювань.

Ген білка p53 також є дуже важливим як для контролю еволюції онкологічних клітин, оскільки він обмежує їх безконтрольний ріст і навіть викликає регресію пухлин, так і для клітинного старіння, виконуючи функцію видалення старих, не функціонуючих клітин. Білок p53 веде себе як антионкоген: його введення у трансформовані клітини пригнічує їх неконтрольовану проліферацію. Було встановлено, що, якщо нормальний p53 бере участь у контролі тканинного росту за рахунок активації генів, які залучені у процес пригнічення росту, його мутантні форми можуть перешкоджати цьому процесу та ініціювати утворення пухлин. Мутації гена p53 є найпоширенішими мутаціями в клітинах пухлин людини і були знайдені в пухлинах різної локалізації.

Гени аполіпопротеіна Е (АпоЕ) і ангіотензин-конвертуючого ферменту (АКФ) відіграють важливу роль в ліпідному метаболізмі. Оскільки серцево- судинні захворювання є однією з головних причин смерті людини, то вони безпосередньо впливають на тривалість життя. Білки АпоЕ беруть участь в утворенні, секреції, транспорті і зв’язуванні макромолекулярних ліпопротеїдних комплексів. Вони є компонентами ТГ-збагачених ліпопротеінів і ЛПВП плазми. АКФ - ключовий фермент ренін-ангіотензинової системи, важливої у контролі хвороби Альцгеймера, гомеостазі води і солі та в контролі клітинного росту. Три звичайні ізоформи АпоЕ: Е2, Е3, Е4 кодуються відповідними алелями ε2, ε3 и ε4. В той час, як ізоформа Е4 асоційована з високим рівнем холестерину в крові і пов’язана з підвищеним ризиком ішемічної хвороби серця (ІХС), а відносно рідкісна ізоформа Е2 пов’язана з менш високим рівнем холестерину крові. Висока частота ε2 алелей у столітніх передбачає, що ε2 може виявляти захисний вплив у вигляді зниження рівня холестерину, що вторинно впливає на випадки ІХС.

Також АпоЕ4 залучені у патогенез хвороби АльцгеймераБілок АпоЕ4 ненормально зв’язується з деякими внутрішньоклітинними білками, що призводить до їх агрегації і формуванню внутрішньоклітинних нейрофібрилярних пучків. Він також зв’язується з позаклітинним β-амілоідним білком. Передбачається, що хвороба Альцгеймера розвивається тому, що АпоЕ4 варіант шкідливий для нейронів, позбавляючи їх нормального захисту від нейродегенерації. Виявлено, що у носіїв двох Е4 алелей хвороба Альцгеймера розвивається в середньому на 15 років раніше, ніж у носіїв двох Е3 алелей. Тем не менш, у столітніх з поліморфізмом ε4/ε4 деменції не спостерігається. Можливо, що АпоЕ4 зв’язується з іншими внутрішньо- і позаклітинними компонентами, що може відігрівати роль у розвитку ІХС.

Полігенна система головного комплексу гістосумісності (HLA у людини і MHC у мишей) може відігравати важливу роль серед генетичних факторів довгожительства. Встановлено, що миші з алелем *H-2*^{d} живуть довше, в них вища активність імунної системи і менша частота спонтанних лімфом. Хоча у столітніх в два рази частіше зустрічаються деякі алелі *HLA-A*,-*C* і *DR*, поки відсутні підтвердження такого зв'язку для інших популяцій.

Значний практичний інтерес представляють дослідження поліморфних маркерів, які змінюють певні функції самих білків, важливі для активності останніх. Інформація про них може бути найбільш корисною при реконструкції системи взаємодії, що призводить до старіння. Наприклад, амінокислотна заміна Arg72Pro в гені p53 підсилює апоптичні функції білка і при цьому асоційована з тривалістю життя.

Дякую

